

# UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL RUMPUT LAUT (*Eucheuma* sp) PADA BERBAGAI TINGKAT KONSENTRASI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Indria Hafizah\*, Nur Illiyin Akib\*\*, Muhammad Fajrianto\*\*\*

\*Bagian Imunologi FK UHO

\*\*Bagian Farmakologi FF UHO

\*\*\*Program Pendidikan Dokter FK UHO

## ABSTRACT

Red algae seaweed *Eucheuma* sp contain flavonoids compound which has activity as an antibacterial. This study aims to determine the difference of seaweed methanol extract (*Eucheuma* sp) on inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. This research was conducted with post-test only design (one-shot case study) with a variable treatment of these seaweed methanol extract (*Eucheuma* sp) against *S. aureus* and *E. coli*. Extracts were then divided into 5 concentration of 75%, 50%, 25%, 5%, and non-extraction (squeezed). Analysis of data *t* to determine the level of concentration differences seen from the ANOVA test (analysis of variance) followed by a posthoc test. The results of bivariate analysis showed the inhibition of *E. coli* bacteria there are difference in clear zone diameter which are significant various levels of each concentration, with a value of  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ) and in *S. Aureus* inhibition  $P = 0.073$  ( $p > 0.05$ ) which means there is no difference in the diameter of clear zone at various levels for each concentration. The conclusions of this research are differences extract concentration have effect on the inhibition of the growth of the bacterium *Escherichia coli* and the difference in concentration of the extract have no effect on the inhibition of growth of *Staphylococcus aureus*.

**Key words :** *Eucheuma* sp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis sehingga prevalensi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri sampai saat ini masih tetap tinggi. Di sisi lain penggunaan antibakteri secara intens di Indonesia dapat menyebabkan kecenderungan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibakteri yang ada. Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan antibakteri baru di Indonesia tetap merupakan salah satu sasaran penting dalam penemuan obat baru. Meskipun riset atau upaya penemuan antibakteri pada abad modern ini banyak difokuskan dalam bidang bioteknologi, namun riset obat-obatan yang bersifat eksploratif menjadi alternatif yang patut dilakukan. Bakteri patogen resisten terhadap antibiotika ampicilin, kotrimoksazol, dan tetrasiklin, sehingga sekarang ini banyak penelitian yang

dilakukan untuk mencari obat-obatan baru yang berasal dari alam (Singkoh, 2011).

Maduriana dan sudira (2009) mengatakan salah satu biota laut yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah rumput laut (alga laut), dimana rumput laut dapat menghasilkan biomassa berupa bahan aktif metabolit untuk melindungi dirinya dari serangan berbagai penyakit dan predator, bahan aktif itu disebut biogenik. Dalam pengobatan tradisional, rumput laut telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk penurun panas, eksim, batu empedu, gondok, gangguan ginjal, dan gangguan perut.

Ekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik itu bakteri gram negatif maupun gram positif dan bioaktivitas ekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* cenderung bersifat bakteriostatik (Dwyana, 2009).

Menurut penelitian, selain karagenan yang merupakan senyawa metabolit primer, rumput laut juga diperkirakan memiliki senyawa sekunder yang dapat menghasilkan aktivitas antibakteri (Shanmugan dan Mody, 2002).

## **METODE PENELITIAN**

*Eucheuma sp* dibersihkan, dianginkan selama 2 hari, dipotong-potong kecil, dan dihaluskan dengan cara diblender hingga di peroleh sampel simplisia 365 gram. Ekstraksi *Eucheuma sp* menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan mencampurkan serbuk *Eucheuma sp* masing-masing dengan metanol selama 1 × 24 jam sebanyak 3 kali. Maserasi dipisahkan dari ampas dengan penyaringan menggunakan corong yang telah dilapisi kertas saring lalu diuapkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental (Haryati, 2011). Kemudian hasil maserasi yang diperoleh sebanyak 85 gram.

### **Uji Daya Hambat Antibakteri Sterilisasi Alat**

Cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, penjepit, spatula, *Nutrient Agar* (NA), dan kertas cakram diameter 6 mm disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm (Rahma, 2010).

### **Pembuatan *Nutrient Agar* (NA)**

Komponen medium ditimbang untuk volume yang digunakan sesuai dengan komposisi NA (beef ekstrak 10g/l, pepton 10 g/l, NaCl 5 g/l, dan agar-agar 15g/l). Semua bahan dilarutkan di dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1atm (Rahma, 2010).

### **Pembutan *Nurient Broth* (NB)**

Pepton 10 g/l, NaCl 5 g/l, dan beef

ekstrak 10 g/l, dilarutkan dalam tabung reaksi dan disterilisasi. (Rahma, 2010).

### **Pengenceran ekstrak dalam berbagai konsentrasi**

Pengenceran ekstrak *Eucheuma sp* dilakukan dengan mengencerkan ekstrak menjadi 75%, 50%, 25%, dan 5% (b/v) dalam 1 ml larutan metanol.

### **Persiapan Kultur Bakteri**

Bakteri uji yang digunakan terdiri dari dua jenis bakteri yaitu *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri uji yang telah tertanam diremajakan dengan cara memindahkan 1 atau 2 ose bakteri pada media NA, bakteri dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi medium dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37±2 °C (Rahma, 2010).

### **Pembuatan suspensi Bakteri**

Bakteri uji disuspensikan dalam media NB, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media yang telah disuspensikan (Mukhtar, 2013).

### **Pengujian Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma sp***

Langkah-langkah pengujian daya hambat antibakteri adalah sebagai berikut :

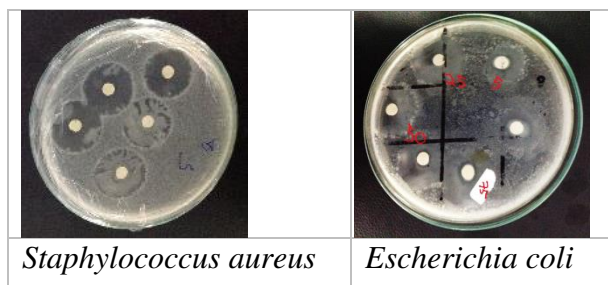
1. Sebanyak 15 ml media agar dituang dalam cawan petri steril.
2. Biakan bakteri pada suspensi diambil sebanyak 10 µl dan dituang ke dalam cawan petri steril lalu dihomogenkan dengan media agar.
3. Masing-masing ekstrak sebanyak 10 µl diteteskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan beberapa saat.
4. Kertas cakram yang sudah kering diletakkan secara teratur di atas medium agar yang mengandung bakteri uji dan kemudian diberi label.
5. Cawan petri yang berisi bakteri uji dan ekstrak senyawa antibakteri tersebut

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

6. Daya hambat ekstrak ditentukan dengan cara mengurangi diameter zona hambat yang terbentuk dengan diameter kertas cakram (6 mm) (Saranani, 2013).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah dibiakan dalam cawan petri dengan menggunakan media *Nutrient agar*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut jenis alga merah spesies *Eucheuma sp* yang diekstraksi dan diencerkan menjadi 4 konsentrasi yaitu 75%, 50%, 25%, dan 5%, serta non ekstraksi. Kedua bakteri diujikan kepada masing-masing konsentrasi untuk melihat adakah perbedaan diameter zona bening pada masing bakteri.



**Gambar 1.** Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma sp*

Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan, *nutrient agar* kemudian diamati untuk melihat terbentuknya zona bening terhadap kedua bakteri di masing-masing konsentrasi ekstrak. Data diolah menggunakan program komputer dengan melakukan uji statistik dan didapatkan hasil uji normalitas terhadap variabel penelitian kadar hambat *Escherichia coli* dan kadar hambat *Staphylococcus aureus* terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), dengan homogeni variansi signifikan ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 1 :** Karakteristik Sampel Penelitian

Sampel	N sampel	Normal parameter		p
		Rerata	SD	
<i>E.coli</i>	15	6,46	0,90	0,588
<i>S.aureus</i>	15	12,03	5,73	0,618

Sumber: Data Primer Penelitian Tahun 2014

Pada **tabel 1** dapat dilihat karakteristik dari 15 perlakuan terhadap sampel ekstrak metanol *Eucheuma sp* diperoleh rerata diameter zona bening terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar  $6,46 \pm 0,90$  mm dan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar  $12,03 \pm 5,73$  mm.

Uji normalitas menggunakan *Kormogorov-Smirnov* menunjukkan data normal dengan nilai  $p = 0,588$  untuk bakteri *Escherichia coli* dan  $p = 0,618$  untuk *Staphylococcus aureus*

Rerata hasil uji daya hambat sampel terhadap bakteri *Escherichia coli* setelah dibiakan di *nutrient agar* dan diberi perlakuan terhadap masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada **tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil rerata uji daya hambat bakteri *Escherichia coli* berdasarkan kelompok konsentrasi

konsentrasi	rerata	SD	Min	Maks	P
Non ekstraksi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5%	2,58	1,04	1,75	3,75	
25%	4,16	1,01	3,25	5,25	
50%	10,58	0,28	10,25	10,75	
75%	15,00	0,43	14,50	15,25	

Sumber: Data Primer Penelitian Tahun 2014

Nampak perbedaan diameter zona bening pada berbagai kadar tiap konsentrasi. Adapun nilai rerata diameter zona bening *E.*

*coli* tertinggi terdapat pada konsentrasi 75% yaitu 15,00 mm, diikuti dengan konsentrasi 50% yaitu 10,58 mm, selanjutnya konsentrasi 25% dengan rerata 4,16 mm, konsentrasi 5% 2,58 mm dan non ekstraksi dengan rerata 0,00 mm. Adapun dari hasil analisis statistik *One Way Anova* didapatkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), berarti pada *alpha* dapat disimpulkan ada perbedaan diameter pada berbagai kadar tiap konsentrasi.

Perbedaan rerata non ekstraksi terhadap semua tingkat konsentrasi berbeda secara signifikan (**Tabel 3**). Perbedaan yang paling besar terjadi antara non ekstraksi dengan tingkat konsentrasi 75%, hasil uji menunjukkan hasil yang signifikan (bermakna) dengan perbedaan rerata zona bening sebesar 15 mm.

Rerata hasil uji daya hambat sampel terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah dibiakan di *nutrient agar* dan

kemudian diberi perlakuan terhadap masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada **tabel 4**. nilai rerata diameter zona bening *S. aureus* tertinggi terdapat pada konsentrasi 75% yaitu 12,83 mm, diikuti dengan konsentrasi 5% yaitu 12,33 mm, selanjutnya konsentrasi 25% dengan rerata 12,25 mm, konsentrasi 50% 11,83 mm dan non ekstraksi dengan rerata 10,91 mm.

Adapun dari hasil analisis statistik *Anova One Way* didapatkan signifikansi sebesar 0,073 dengan interpretasi  $H_0$  diterima karena  $p \text{ value } (0,073) > \alpha (0,05)$  yang artinya tidak terdapat perbedaan diameter zona bening pada berbagai kadar tiap konsentrasi. Oleh karena hasil uji *ANOVA* menunjukkan uji yang tidak bermakna atau tidak terdapat perbedaan maka analisis tidak dilanjutkan ke uji *post hoc*.

**Tabel 3:** Uji *post Hoc* tingkat kemaknaan kadar hambat bakteri *Escherichia coli* dibandingkan antar Perlakuan

KELOMPOK	NILAI P VALUE KELOMPOK				
	Non ekstraksi	5%	25%	50%	75%
Non ekstraksi	-	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*
5%	0,001*	-	0,018*	0,000*	0,000*
25%	0,024*	0,018*	-	0,000*	0,000*
50%	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
75%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

Sumber: Data Primer Penelitian Tahun 2014

**Tabel 4.** Hasil rerata uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* Berdasarkan Kelompok konsentrasi

konsentrasi	Rerata	SD	Minimum	Maksimum	p
Non ekstraksi	10,91	6,29	10,25	11,50	0,073
5%	12,33	0,62	11,75	13,00	
25%	12,25	1,00	11,25	13,25	
50%	11,83	7,21	11,00	12,25	
75%	12,83	5,20	12,25	13,25	

Sumber: Data Primer Penelitian Tahun 2014

## PEMBAHASAN

Hasil uji daya hambat ekstrak *Eucheuma sp* terhadap bakteri uji menunjukkan adanya respon hambatan pertumbuhan terhadap bakteri *E. coli*, responnya yaitu terdapatnya perbedaan tingkat konsentrasi terhadap diameter zona bening di konsentrasi 5%, 25%, 50%, dan 75%. Dimana rerata tertinggi terjadi di konsentrasi 75% yaitu sebesar 15 mm.

*Eucheuma sp* memiliki kandungan metabolit sekunder rumput laut dapat berperan sebagai antibakteri (Yudha, 2008). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya. Akibatnya, fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harborne, 2003).

Naufalin (2008) menyatakan pada bakteri Gram negatif terdapat sisi hidrofilik yaitu gugus karboksil, amino, fosfat, dan hidroksil yang peka terhadap senyawa polar. Kepolaran senyawa inilah kemungkinan yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram negatif.

Penelitian yang dilakukan oleh Melki (2011), dapat dilihat bahwa ekstrak yang juga merupakan salah satu jenis rumput laut *Gracilaria sp* yang diujikan terhadap *E. coli* dikategorikan kuat dengan zona hambat sebesar  $14,33 \pm 3,22$  mm. Pada konsentrasi 0,05% sampai 10% memiliki zona hambat tertinggi jika dibandingkan terhadap bakteri *S. aureus*, dengan konsentrasi minimal 0,05%. Pada penelitian ini lebih memiliki nilai pemaknaan yang signifikan terhadap *E. coli* dibandingkan dengan *S. aureus*.

Berdasarkan hasil penelitian Iskandar (2003), menunjukkan bahwa ekstrak etanol rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* yang memiliki kandungan flavonoid mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak terhadap bakteri uji *Escherichia coli* sebesar 0,5%.

Hasil uji daya hambat ekstrak *Eucheuma sp* terhadap bakteri uji menunjukkan adanya respon hambatan pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *S. aureus*, namun pada bakteri ini tidak terdapat perbedaan tingkat konsentrasi terhadap diameter zona bening bakteri. Artinya perbedaan mungkin terjadi terhadap masing-masing konsentrasi namun tidak bermakna.

Ekstrak kasar alga merah jenis *Eucheuma sp* bersifat bakteriostatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Mycek (2001), bahwa suatu antimikroba bersifat bakteriostatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika pemberian senyawa terus dilakukan dan jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan dan perbanyakan dari bakteri akan kembali meningkat yang ditandai dengan berkurangnya diameter zona hambatan. Sebaliknya bersifat bakteriosida jika diameter zona hambatan meningkat, hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Flavonoid juga bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba. Di dalam flavonoid mengandung suatu senyawa fenol. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat terganggu disebabkan senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang

bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Rahayu, 2000).

Sementara itu sama pada penelitian lain disebutkan bahwa berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol alga merah dengan jenis *Eucheuma cottonii* yang memiliki metabolisme sekunder flavonid, dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Bioaktivitas ekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* cenderung bersifat bakteriostatik dengan diameter 10,55 mm untuk *Staphylococcus aureus*. (Dwyana, 2012)

Penelitian Melki (2011), mendapatkan hasil Ekstrak *Gracilaria sp* menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* sebesar 12,67±2,08 mm. Konsentrasi hambat minimum ekstrak *Gracilaria sp* terhadap bakteri *S. aureus* adalah pada konsentrasi 0,05%.

## SIMPULAN

Perbedaan konsentrasi ekstrak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tetapi tidak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian uji aktivitas ekstrak tanaman *Eucheuma spini* masih perlu pengujian KLT Bioautografi untuk mengidentifikasi senyawa apa yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dan perlu pengujian secara eksperimental untuk dijadikan obat alternatif.

## DAFTAR PUSTAKA

Dwyana Z, Johannes E. 2012. *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah Eucheuma Cottonii Sebagai Antibakteri Terhadap*

- Bakteri Patogen* [online]. Available at : <http://222.124.222.229/bitstream/handle/123456789/4282/ARTIKEL%20PUBLIKASI.pdf> [diakses 13 November 2013]
- Harborne, J.B. 2003. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Edisi II*. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Haryati, S. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Fraksi n-Heksan dari Batang Tanaman Etlingera Sp. dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri dan Antifungi*. Skripsi Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Haluoleo. Kendari
- Iskandar Y, Rusmiati D, Dewi RR. 2003. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rumput Laut (Eucheuma cottonii) Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Bacillus Cereus* [online]. Available at : [http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/05/akt\\_anbakteri\\_ekstrak\\_rumput\\_laut.pdf](http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/05/akt_anbakteri_ekstrak_rumput_laut.pdf) [diakses : 12 November 2013]
- Maduriana I.M, Sudira Iw. 2009. *Skrining Dan Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Rumput Laut Dari Pantai Batu Bolong Canggü dan Serangan*. Buletin Veteriner Udayana Vol.1 No.2. :69-76
- Melki, Ayu. W, Kurniati. 2011. *Uji Antibakteri Ekstrak Gracilaria sp (Rumput Laut) terhadap bakteri Escherichia coli dan staphylococcus aureus* [online]. Available at : <http://eprints.unsri.ac.id/1257/2/MelkiujianantibakteriekstrakGracilariasp.pdf> [diakses : 09 November 2013]
- Mukhtar. YW. 2013. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Jati (Tectons grandis) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 25923*, Skripsi, Program Studi Pendidikan Dokter, FK, UHO, Kendari

- Mycek, M. J., 2001. *Farmakologi ; Ulasan Bergambar Edisi 2*. Widya Medika. Jakarta.
- Naufalin, R, Jenie, B.S.L., Sudarwanto, F.K.M, dan Rukmini, H.S. 2008. Pengaruh pH, NaCl dan Pemanasan terhadap Stabilitas Antibakteri Bunga Kecombrang dan Aplikasinya pada Daging Sapi Giling. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol XVII no.3.
- Rahmah, M.N.S.T, Utami R., dan Fitri N. R., 2010. *Pemeriksaan Residu Antibiotik pada Hati Kerbau dan Ikan Nila dengan Metoda Difusi Agar*, *Jurnal Peternakan*, 7(1) : 29-34.
- Rahayu, P. Winiati. (2000). *Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak*. Vol 11(2). *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*.
- Saranani SR. 2013. *Uji Daya Hambat Ekstrak Tanaman Komba – Komba (Chromolaena odorata) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 25923, Streptococcus sp, Salmonella typhi YCTC, dan Escherechia coli ATCC 35218*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter, FK, UHO, Kendari
- Shanmugam, M. Mody, K.H. 2000. *Heparinoid-active Sulphated Polysaccharides from Marine Algae as Potential Blood Anticoagulant Agents*. *Marine Algae & Marine Environment Discipline*. Central Salt & Marine Chemicals Research Institute. Bhavnagar, 364002, India. <http://www.ias.ac.in/cuusci/dec252000/1672.pdf>, 05/04/05, 10:19.
- Singkoh, M.F.O, 2011. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut Caulerpa racemosa Dari Perairan Pulau Nain*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropid*. Volume VII-3, Tahun 2011, Halaman 123-127
- Yudha, A.P. 2008. *Senyawa Antibakteri dari Mikroalga Dunaliella sp. pada Umur Panen yang Berbeda*. *Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Perikanan*.